

10/525245  
PCT/JP03/03704Re PCT/PTO 22 FEB 2005  
26.03.03日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日  
Date of Application:

2002年 8月28日

REC'D 23 MAY 2003

WIPO PCT

出願番号  
Application Number:

特願2002-249547

[ST.10/C]:

[JP2002-249547]

出願人  
Applicant(s):

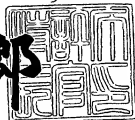
株式会社東海ヒット

PRIORITY  
DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 5月 9日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3033937

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願

【整理番号】 P020172

【提出日】 平成14年 8月28日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 静岡県富士宮市源道寺町339 株式会社東海ヒット内

【氏名】 土屋 秀治

【特許出願人】

【識別番号】 595040205

【氏名又は名称】 株式会社東海ヒット

【代理人】

【識別番号】 100098936

【弁理士】

【氏名又は名称】 吉川 晃司

【選任した代理人】

【識別番号】 100098888

【弁理士】

【氏名又は名称】 吉川 明子

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 022345

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9711217

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書  
【発明の名称】 顕微鏡観察用培養器  
【特許請求の範囲】

【請求項 1】

上面が開口した容器形を為すと共にその中央部でディッシュなどの試料容器を着脱自在に収める容器収容部と前記容器収容部の外側に位置した貯水池とが設けられた水槽ユニットと、前記水槽ユニットの上面を塞ぐ蓋と、前記試料容器及び水槽ユニットを加温するヒーターと、前記水槽ユニットと蓋とで画成される培養空間に所定のガスを供給するためのガス供給手段とを備えており、水槽ユニットと蓋はいずれもその中央部が上下方向へ光を通す透光部になっていることを特徴とする顕微鏡観察用培養器。

【請求項 2】

請求項 1 に記載した顕微鏡観察用培養器において、貯水池に水槽ユニットの外から水を供給する給水手段を備えたことを特徴とする顕微鏡観察用培養器。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載した顕微鏡観察用培養器において、ヒーターはプレート形で試料容器を下から加温するものであり、前記ヒーターには水槽ユニットと蓋の透光部に対応する位置に透光部が設けられていることを特徴とする顕微鏡観察用培養器。

【請求項 4】

請求項 1 から 3 のいずれかに記載した顕微鏡観察用培養器において、装着された試料容器に水槽ユニットの外から培養液を供給する培養液供給手段を備えたことを特徴とする顕微鏡観察用培養器。

【請求項 5】

請求項 1 から 4 のいずれかに記載した顕微鏡観察用培養器において、培養液供給手段は、水槽ユニットの蓋を開けることなく試料容器内の培養液を補給できる構造のものであることを特徴とする顕微鏡観察用培養器。

【請求項 6】

請求項 1 から 5 のいずれかに記載した顕微鏡観察用培養器において、容器収容

部は、水槽ユニットの中央部を挟んで対向し且つその対向し合う間隔を調節自在とした一対の容器ホルダーを備えたことを特徴とする顕微鏡観察用培養器。

【請求項 7】

請求項 3 から 6 のいずれかに記載した顕微鏡観察用培養器において、水槽ユニットは顕微鏡のステージ上面に載置され、プレート形のヒーターに対し間隔をあけて接触しない状態に備えられるものであって、前記水槽ユニットと前記ヒーターとは分離可能であることを特徴とする顕微鏡観察用培養器。

【請求項 8】

請求項 7 に記載した顕微鏡観察用培養器において、顕微鏡のステージ上面に水槽ユニットの位置を固定するための固定子を備えたことを特徴とする顕微鏡観察用培養器。

【請求項 9】

請求項 8 に記載した顕微鏡観察用培養器の固定子を所望の位置に固定するための固定子取り付け用治具であって、前記治具は水槽ユニットの中心とステージのツール嵌め込み孔の中心とを一致させる芯出し部材と、前記芯出し部材によって水槽ユニットの中心とステージの穴の中心とを一致させ水槽ユニットの外周部に嵌めた状態で固定子を当接させて位置決めする外嵌め部材とから成ることを特徴とする固定子取り付け用治具。

【請求項 10】

上面が開口した本体とその上面を塞ぐ蓋とを備えた透明な試料容器であって、蓋の上面から突出したホース接続突部を前記蓋と一体に形成し、ホース接続突部にはその外面から蓋底面に達するホース挿入孔を形成したことを特徴とする試料容器。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、顕微鏡観察用培養器に係り、特に、顕微鏡のステージに載せた状態で観察試料を培養しながら観察することができる顕微鏡観察用培養器に関するものである。

## 【0002】

## 【従来の技術】

例えば、生命工学や生物工学といったバイオテクノロジー分野とか病理学分野において、細胞や菌などの生体を培養しながら顕微鏡観察するには、通常、目的の観察試料を温度や湿度もしくは所定のガス濃度などの培養条件が管理された雰囲気下に置くことが必要になる。

このような条件での顕微鏡観察を行う場合、従来は、観察試料を入れた培養器を顕微鏡から離れた別置きインキュベーターに収容して観察試料を培養し、それを随時取り出しては顕微鏡のステージに載せるといった方法が採られている。

## 【0003】

ところが、従来の方法では、観察に手間が掛かるだけで無く、培養条件下においてままで観察試料を観察したり撮影することが不可能であると共に、その観察や撮影は培養条件が管理されない状態で行われることになるため、正確な観察が行えないという問題がある。

## 【0004】

そこで本発明者は、先に、顕微鏡のステージに載せた状態で観察試料を培養しながら観察することができる顕微鏡用透明恒温培養器を提案した（特開平10-28546号公報に記載）。

この培養器は、顕微鏡のステージにちょうど載る程度の大きさを有し一側部のヒンジで上下開閉自在にした薄い箱形の容器を備えており、この容器の底面部と天面部はいずれも透明発熱プレートになっていて、容器内には加温用の蒸発皿が置かれ、容器内に炭酸ガスを供給するためのガス噴気口などが設けられている。

## 【0005】

このような構造の培養器によれば、容器内は、蒸発皿からの水分蒸発により加湿し、透明発熱プレートの発熱によって加温され、ガス噴気口からは炭酸ガスが供給されるので、この炭酸ガスの供給量や透明発熱プレートの発熱量等を制御することで所望の培養条件に調節される。そして、容器の底面部と天面部は透明であるから、上下方向へ光を通すことができる。従って、この容器を顕微鏡のステージに載せたまま、その中で菌や細胞などの試料を所望の培養条件下においてま

ま顕微鏡観察することができる。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記の培養器は、容器内にはディッシュ等の試料容器が収納されるので、加湿手段である蒸発皿として大きな容量のものをを用いることは不可能であり、その貯水量には自ずと限度がある。このため、加湿下での観察を行う場合は、蒸発皿の貯水量以上での連続観察が不可能になり、これに水を加える際は、容器を完全に開放してしまうため、培養条件が崩れてしまうことになる。

【0007】

また、観察容器としては通常深皿状のディッシュが用いられるため、そのディッシュの中に器具を差し入れるには、容器をほぼ完全に開放しなければならない。この開放によって、湿度や温度、ガス濃度等の培養条件が完全に崩されてしまうことになる。

【0008】

本発明は前記した従来の問題点に鑑みて為されたものであり、顕微鏡のステージに載せた状態のまま観察試料の培養と観察を行うことができると共に、設定された培養条件による雰囲気崩さないで観察試料に対する処置を容易に行うことができる新規な顕微鏡観察用培養器を提供することを目的とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】

この目的を達成するために、請求項1に記載した顕微鏡観察用培養器は、上面が開いた容器形を為すと共にその中央部でディッシュなどの試料容器を着脱自在に収める容器収容部と前記容器収容部の外側に位置した貯水池とが設けられた水槽ユニットと、前記水槽ユニットの上面を塞ぐ蓋と、前記試料容器及び水槽ユニットを加温するヒーターと、前記水槽ユニットと蓋とで画成される培養空間に所定のガスを供給するためのガス供給手段とを備えており、水槽ユニットと蓋はいずれもその中央部が上下方向へ光を通す透光部になっていることを特徴とするものである。

【0010】

請求項2に記載した顕微鏡観察用培養器は、請求項1に記載した顕微鏡観察用培養器において、貯水池に水槽ユニットの外から水を供給する給水手段を備えたことを特徴とするものである。

【0011】

請求項3に記載した顕微鏡観察用培養器は、請求項1または2に記載した顕微鏡観察用培養器において、ヒーターはプレート形で試料容器を下から加温するものであり、前記ヒーターには水槽ユニットと蓋の透光部に対応する位置に透光部が設けられていることを特徴とするものである。

【0012】

請求項4に記載した顕微鏡観察用培養器は、請求項1から3のいずれかに記載した顕微鏡観察用培養器において、装着された試料容器に水槽ユニットの外から培養液を供給する培養液供給手段を備えたことを特徴とするものである。

【0013】

請求項5に記載した顕微鏡観察用培養器は、請求項1から4のいずれかに記載した顕微鏡観察用培養器において、培養液供給手段は、水槽ユニットの蓋を開けることなく試料容器内の培養液を補給できる構造のものであることを特徴とするものである。

【0014】

請求項6に記載した顕微鏡観察用培養器は、請求項1から5のいずれかに記載した顕微鏡観察用培養器において、容器収容部は、水槽ユニットの中央部を挟んで対向し且つその対向し合う間隔を調節自在とした一対の容器ホルダーを備えたことを特徴とするものである。

【0015】

請求項7に記載した顕微鏡観察用培養器は、請求項3から6のいずれかに記載した顕微鏡観察用培養器において、水槽ユニットは顕微鏡のステージ上面に載置され、プレート形のヒーターに対し間隔をあけて接触しない状態に備えられるものであって、前記水槽ユニットと前記ヒーターとは分離可能であることを特徴とするものである。

【0016】

請求項 8 に記載した顕微鏡観察用培養器は、請求項 7 に記載した顕微鏡観察用培養器において、顕微鏡のステージ上面に水槽ユニットの位置を固定するための固定子を備えたことを特徴とするものである。

#### 【0017】

請求項 9 に記載した固定子取り付け用治具は、請求項 8 に記載した顕微鏡観察用培養器の固定子を所望の位置に固定するための固定子取り付け用治具であって、前記治具は水槽ユニットの中心とステージのツール嵌め込み孔の中心とを一致させる芯出し部材と、前記芯出し部材によって水槽ユニットの中心とステージの穴の中心とを一致させ水槽ユニットの外周部に嵌めた状態で固定子を当接させて位置決めする外嵌め部材とから成ることを特徴とするものである。

#### 【0018】

請求項 10 に記載した試料容器は、上面が開口した本体とその上面を塞ぐ蓋とを備えた透明な試料容器であって、蓋の上面から突出したホース接続突部を前記蓋と一体に形成し、ホース接続突部にはその外面から蓋底面に達するホース挿入孔を形成したことを特徴とするものである。

#### 【0019】

#### 【発明の実施の形態】

以下に、本発明の実施の形態に係る顕微鏡観察用培養器 1 を図面に従って説明する。

この顕微鏡観察用培養器 1 は、ディッシュ 20 が着脱自在に装着される水槽ユニット 3 と、この水槽ユニット 3 の上面を塞ぐ蓋 5 と、水槽ユニット 3 やディッシュ 20 を加温するためのヒーター 59 と、水槽ユニット 3 を顕微鏡のステージ 67 上で位置固定するための位置固定子 81、83 等で構成される。

#### 【0020】

最初に、図 10 から図 12 によって培養器 1 で使用するディッシュ 20 を説明する。

このディッシュ 20 は、透明なプラスチック製のもので、やや深めの円形皿状をした本体 21 と、これに被せるフタ 23 とで構成されており、フタ 23 には、その上面から突出したホース接続突部 25 が一体に形成されている。このホース



接続突部 25 は、蒲鉾形をしていて、フタ 23 の中心を挟んで互いに反対側に位置しており、ホース挿入孔 27 が形成されている。このホース挿入孔 27 は、その一端がホース接続突部 25 の一端面に開口し他端がフタ 23 の底面に開口するように L 字形に屈曲している（図 12 参照）。各通し孔 27 の一端口は互いに反対側に向かって開口している。

このホース挿入孔 27 には培養液供給ホース 29 と培養液吸出しホース 31 が各別に通され、その先端はフタ 23 の底面より下へ引き出される。

なお、ディッシュ 20 は透明ガラスによって構成してもよい。

#### 【0021】

水槽ユニット 3 は、水槽 5 と、ディッシュ 20 を保持する容器ホルダー 7 と、給水管 13 と、ガス供給管 14 と、ホースホルダー 9 とで構成されている。

水槽 5 は、円形をした底板 5a と、底板 5a の外周縁から立ち上がった外周壁 5b とが一体に形成した部材と、底板 5a にその孔 5c の縁から立ち上がるように取り付けられた筒形の内周壁 5d とで構成されている。この内周壁 5d から外側の環状溝が貯水池 5e になっていて、内周壁 5d の内側が容器収容部 5g になっている。また内周壁 5d の上端部には貯水池 5e 側へ張り出す波返し部 5g が設けられている。この波返し部 5g は貯水池 5e 内の水が揺れて多少波が立っても、この波が内周壁 5d を乗り越えるのを防止するためのものである。

外周壁 5b には、その上端寄りの高さ位置で周方向へ配列された 4 つの配管孔 5f（図 6、図 7 参照）が形成されている。

#### 【0022】

内周壁 5d の内周面にはホルダー取付け座 6 が 2 つ、内周壁 5d の中心線を挟んで互に対向する向きで接着されている。これらホルダー取付け座 6 は、平面視ほぼ三日月形をしており、その上面における中間位置には互に対向する方向へ延びる幅広で浅い溝 6a が形成されていて、この溝 6a の底面にネジ穴 6b が形成されている。

#### 【0023】

7 は容器ホルダーを示し、この容器ホルダー 7 は、側方から見てほぼクランク形に屈曲しており、ホルダー 7 の上部には長孔 7a が形成され、下部の先端縁 7

b は、その中央が矩形に凹んだ形状になっている。容器ホルダー 7 は、その上部がホルダー取付け座 6 の溝 6 a に摺動自在に収まると共に、長孔 7 a を上から通されたネジ 8 がネジ穴 6 b にねじ込まれることでホルダー取付け座 6 に圧着される。この状態で、下部の先端縁 7 b どうしが互いに対向し、その対向間隔は、ネジ 8 を緩めて容器ホルダー 7 を移動させることで変更される。

#### 【0024】

外周壁 5 b の外周面には、培養液供給ホース 29 及び培養液吸出しホース 31 のホースホルダー 9 が 2 つ取り付けられている。2 つのホースホルダー 9 は水槽 5 を挟んで互いに対向する位置に備えられている。ホースホルダー 9 は外周壁に固定されたベースブロック 10 と、このベースブロック 10 の上面に押さえるネジ 11 で圧着される押さえ板 12 とで構成されている。ベースブロック 10 の上面には保持溝 10 a が形成されている（図 6 参照）。なお、図 6 には、ホースホルダー 9 の培養液吸出しホース 31 側のみを示してあるが、培養液供給ホース 29 側についても同じ構造となっている。

ホースホルダー 9 は、その保持溝 10 a が、水槽 5 の外周壁 5 b に形成されている 2 つの配管孔 5 f に各別に連続している。

#### 【0025】

2 つの配管孔 5 f には、ディッシュ 20 の培養液供給ホース 29 及び培養液吸出しホース 31 が各別に通されている。そして、培養液供給ホース 29 と培養液吸出しホース 31 の配管孔 5 f から外へ出た部分がホースホルダー 9 の保持溝 10 a に備えられ、この部分が押さえ板 12 によってベースブロック 10 に圧着されて抜止めされる。

培養液供給ホース 31 は、図示しない除菌フィルターを介して図示しない培養液タンクに連結されている。

培養液供給手段は、培養液供給ホース 29、培養液吸出しホース 31 及び培養液タンクによって構成されている。

なお、培養液供給ホース 29 に培養液を入れたシリンジポンプに接続しておき、プランジャーを押して進行させ、培養液を押し出して培養液ホース 29 を介してディッシュ 20 に供給する構成としてもよい。

## 【0026】

外周壁5bの外周面には、給水ホース17及びガスホース18用のホースホルダー91が2つ取り付けられている。2つホースホルダー91はある程度の間隔をあけて並んで配置されている。ホースホルダー91は外周壁に固定されたベースブロック93を有し、このベースブロック93には水平方向へ延びる横孔95が形成されている。ベースブロック93の横穴95は水槽5の外周壁5bに形成されている2つの配管孔5fに各別に連続している。さらにベースブロック93にはネジ孔97が形成され、このネジ孔97はベースブロック93の上面と横穴95とに連通している。

## 【0027】

一方のベースブロック93の横穴95及び配管孔5fには給水管13が動作自在に挿通されており、この給水管13はネジ孔97に取り付けられた押さえネジ96の先端が当接することによって固定される(図7参照)。なお、図7には、ホースホルダー96の給水ホース17側のみを示してあるが、ガスホース18側についても同じ構造となっている。

他方のベースブロック93の横穴95及び配管孔5fにはガス供給管14が動作自在に挿通されており、このガス供給管14も吸水管3と同様にネジ孔97に取り付けられた押さえネジ96の先端が当接することによって固定される。

## 【0028】

給水管13の水槽5内に突出した部分は下向きに屈曲し、その先端口13aは、内周壁5dの上端よりやや低い高さで貯水池5eに臨むように設けられる。給水管13の後端部は、ホースホルダー97の横穴95から突出しており、この突出部分に給水ホース17の一端が連結され、給水ホース17の他端は給水タンク16に連結される。

給水手段は、給水管13、給水タンク16及び給水ホース17によって構成されている。

## 【0029】

ガス供給管14の水槽5内に突出した部分は下向きに屈曲しており、ガス供給管14の先端は貯水池5eの底面に接する辺りまで延びている。ガス供給管14

の後端部は、ホースホルダー 97 の横穴 95 から突出しており、この突出部分にガスホース 18 の一端が連結されている。ガスホース 18 の他端は、 $\text{CO}_2$ 供給を停止した際に貯水池 5 e 内の水が逆流するのを防止するためのバルブ（またはクランプ）、流量計及びガス流量を調整する調整弁を介して  $\text{CO}_2$ ポンペに連結されている。

ガス供給手段は、ガス供給管 14、ガスホース 18、調整弁及び  $\text{CO}_2$ ポンペによって構成されている。

#### 【0030】

蓋 33 は、比較的厚い円板形の蓋板 37 をベースとしており、この蓋板 37 には円形の大きな窓 39 が形成されている。蓋板 37 の下面には、その外周縁よりやや内側の位置を通して無端状に延びる嵌合突部 41 が形成されている。また蓋板 37 の下面には、窓 39 を塞ぐ、ヒーターとしての透明ガラスヒーター 43 が貼り付けられている。

透明ガラスヒーター 43 は 2 枚の板ガラス 44、46 が貼り合わされて構成されており、上側の板ガラス 44 の下面に透明導電膜が形成され、この透明導電膜に通電することによって発熱するようになっている。透明ガラスヒーター 43 には温度センサー 57 が備えられ、この温度センサー 57 の検知情報に基づいて前記透明導電膜に対する通電が制御され、発熱温度が所定範囲になるように調節される。

透明ガラスヒーター 43 には、窓 39 の一側面寄りに偏寄した位置に円形の作業口 45 が形成されると共に、小さなホース通し孔 50 が 2 つ形成されている。ディッシュ 20 のフタ 23 を用いないで、ディッシュ 20 を開放したままで培養を行う場合には、このホース通し孔 50 に培養液供給ホース 29 及び培養液吸出しホース 31 を通し、培養液供給ホース 29 及び培養液吸出しホース 31 の先端部をディッシュ 20 内に配置して培養液 B の交換を行う。

#### 【0031】

作業口 45 はフタ 49 によって閉鎖され、ホース通し孔 50 は栓 51 によって閉鎖される。

フタ 49 は作業口 45 より多少大きい円板形をしており、その下面の外周部に

シリコンゴム製の粘着リング 53 が貼り付けられている。この粘着リング 53 が作業口 45 の開口縁を囲うようにフタ 49 を置くことで作業孔が塞がれる。そして、このフタ 49 にも小さな作業孔 55 が形成されていて、この作業孔 55 も栓 51 によって塞がれる。

栓 51 は、シリコンゴムによって構成され、ホース通し孔 50 や作業孔 55 より一回り大きい円盤状に形成されている。

透明ガラスヒーター 43 には下側から温度センサーが接着されており、この温度センサーから延びた信号線は図示しない温度コントローラーに接続される。

#### 【0032】

ヒーター 59 は、プラスチック製のリング形を為すフレーム 61 をベースとしており、フレーム 61 の外径は水槽ユニット 3 の内径より一回り小さい寸法になっている。フレーム 61 の底面の中心側半部から下へ突出した環状の環状凸部 63 が形成されると共に、その内周面の先端近くから内フランジ 65 が突出している。環状凸部 63 の外径は、顕微鏡のステージ 67 に設けられているツール嵌め込み孔 69 の径に合わせて設定される。

フレーム 61 の内フランジ 65 から上の空間には、透明ガラス製のトッププレート 71 が内フランジ 65 に載せられてセットされる。トッププレート 71 と上側プレート 75 との間には空間 72 が介在している。このトッププレート 71 はフレーム 61 の内フランジ 65 から上の空間の寸法より多少厚く、中央部には円形の孔 73 が形成されている。

#### 【0033】

フレーム 61 の内フランジ 65 から下の内側空間には、アルニウム製の上側プレート 75 及び下側プレート 77 と、これらの間に位置したニクロム線によって構成される発熱体 79 とが互いに接着された積層体とが備えられている。上側プレート 75 は内フランジ 65 の下面に接着されて取り付けられている。従ってプレート 75、下側プレート 77 及び発熱体 79 の積層体は、言わば吊り下げられた状態で内フランジ 65 に取り付けられている。上側プレート 75 と下側プレート 77 は円板形をしており、アルマイト処理が施されている。

上側プレート 75 と下側プレート 77 には、トッププレート 71 の孔 73 より

多少大きい円形をした孔75a、77aがそれぞれ形成されている。

透光部は、これら孔75a、77a、トッププレート71の孔73、盖板37の窓及び水槽5の底板5aに形成された孔5cによって構成されている。

#### 【0034】

図示は省略してあるが、フレームには配線用の空間が形成されていて、この配線用の空間に図示しないコントローラーから延びた接続コードの先端部が這わされ、その接続コードの先端部が発熱体79に接続されている。

#### 【0035】

固定子81、83は、横断面がやや縦長矩形で水槽の外周面の曲率とほぼ同じ曲率の円弧状に屈曲した厚い板状をして、その底面に両面粘着テープが貼り付けられている。固定子81、83には2つのネジ孔84が形成され、このネジ孔84に押しネジ85が取り付けられている。

#### 【0036】

顕微鏡のステージ67上の所望する位置に固定子81、83を固定するのに用いる固定子取り付け用治具について説明する。

固定子取り付け用治具は芯出し部材103と外嵌め部材105とによって構成されている。芯出し部材103は中央部に円形の孔104を有する円盤状で、その直径はディッシュ20とほぼ同じ寸法となっている。孔104は上側プレート75の孔75aと同じ大きさに形成されている。外嵌め部材105は水槽5の外周部にピッタリ嵌める大きさのリング状で、外周部には固定子81、83を嵌める凹部107が形成されている。外嵌め部材105の凹部107が形成されている部分の幅寸法5mmになっている。

#### 【0037】

次に、顕微鏡観察用培養器1の使用方法を説明する。

図8、図9を参照しつつ固定子取り付け用治具を用いて固定子81、83を顕微鏡のステージ67に固定する作業について説明する。

まず、ヒーター59を顕微鏡のステージ67に載せ、フレーム61の環状凸部63をステージ67のツール嵌込み孔69に嵌める。次に、外嵌め部材105をツール嵌込み孔69に嵌めてあるフレーム61の位置に合わせてステージ67に載

せる。そして、水槽5をヒーター59に被せるようにステージ67に載せると、水槽5の外周部に外嵌め部材105が嵌り込む。

#### 【0038】

次いで、容器装着部5gの中心に位置するように芯出し部材103をトッププレート71上に置いて、容器ホルダー7の先端縁7bを芯出し部材103の外周面に当接させる。この状態でネジ8を締めて、容器ホルダー7を固定して芯出し部材103を容器ホルダー7に保持させる。そして、水槽5をステージ67上で動かして、芯出し部材103の孔104と上側プレート75の孔75aが一致するように位置を合わせる。

#### 【0039】

次に、外嵌め部材105を回転させて凹部107が固定子81、83を固定する位置にくるように調節する。

一方、固定子81、83は、押しネジ85の先端部がネジ孔内に入り込み、固定子81、83の水槽5に対向する面から突出しない状態にしておく。そして、固定子81、83を凹部107に嵌めて位置決めし、ステージ67上に貼り付けて固定する。次いで、芯出し部材103を取り外す。

#### 【0040】

固定子81、83をステージ67上に固定した後、水槽5を一旦持ち上げて、外嵌め部材105を取り去る。そして、水槽5を元の戻してステージ67に設置すると、固定子81、83は水槽5の外周面から5mm（外嵌め部材105の凹部107が形成されている部分の幅寸法）離間して配置されることになる。そして、押しネジ85をねじ込み方向へ回して、固定子81、83から押しネジ85の先端部を突出させて、水槽5の外周面に当接させる。これによって、水槽ユニット3がステージ67上で固定される。なお、押しネジ85をネジ孔内に入り込んだ状態とすれば、水槽ユニット3を固定子81側へ5mm、固定子83側へ5mmの範囲で動かすことが可能であり、対物レンズTに対向する観察部分の変更を行うことができる。

#### 【0041】

ディッシュ20を装着する作業について説明する。

ネジ8を緩めておき、ディッシュ20を水槽5の容器収容部5gに収容すると共にトッププレート71上に載せてから、容器ホルダー7を前進させ、容器ホルダー7の先端縁7bをディッシュ20の本体21の外周面に当接させる。この状態で長穴7aを貫通してネジ穴6bに取り付けられているネジ8を締めて、容器ホルダー7を固定してディッシュ20を保持させる。さらに前述したように、ディッシュ20に備えられた培養液供給ホース29と培養液吸出しホース31を配管孔5fに各別に通し、これら培養液供給ホース29と培養液吸出しホース31の途中部分をホースホルダー9の保持溝10aに備えて、押さえ板12によってベースブロック10に圧着させて抜止めする。

なお、ディッシュ20には観察対象とする細胞などの試料を培養液と共に入れておく。

#### 【0042】

次に、顕微鏡観察用培養器1への給水と蒸気の発生、CO<sub>2</sub>ガスの供給について説明する。

給水タンク16に水を入れて、適宜なハンガーに掛けることで、水槽ユニット3より高い位置に置く。すると、給水タンク16内の水は、自重で給水ホース17から給水管13を経て、ベース部3の貯水池5eに流れ落ちて行き、この貯水池5eに溜まる。そして、貯水池5eに溜まった水の水面が給水管13の先端口13aの口に達すると貯水池5eへの水の供給が停止する。蒸発などによってこの水面が下がると、給水管13の口から給水タンク16に空気が入って、それと入れ替わりに給水管13内の水が貯水池5eに落ちる。これを繰り返すことで貯水池5eの水面が一定に保持されて、貯水池5eには常時一定量の水Wが蓄えられる。なお、貯水池5eへの給水は上記した方法の他、シリジポンプを用い、貯水池5eの水量をみて行ったり、或いは定期的に行うようにしてもよい。

また、顕微鏡観察用培養器1では、窓39が円形に形成されているので、給水管13が透明ガラスヒーター43を透して外部から見るができる。このため蓋板37を開けることなく、貯水池5eの水位を一目で確認することができる。

#### 【0043】

顕微鏡観察用培養器1の動作について説明する。



図示しないコントローラーを操作して透明ガラスヒーター43とヒーター59を駆動させると、ディッシュ20、水槽5内を加熱し、更に貯水池5eの水が加熱されて蒸発させられる。従って、培養空間35が蒸気で満たされ、容器ホルダー7に保持されたディッシュ20の中もこの蒸気に晒される。この蒸気によって、培養空間35は、相対湿度90~95%に保たれると共に、透明ガラスヒーター43とヒーター59の発熱度に応じた温度に保持される。この場合、ディッシュ20は閉鎖空間35の中央部に位置し、それを囲うように貯水池5eが位置するので、ディッシュ20内の湿度はムラ無く均一に保たれる。

#### 【0044】

また、5%濃度の $\text{CO}_2$ ガスのボンベに連結された調整弁を開き、この $\text{CO}_2$ ガスをガスホース18を介して培養空間35へ供給する。培養空間35へ供給された $\text{CO}_2$ ガスは、顕微鏡観察用培養器1の水槽5と蓋33との隙間等から培養器1外へ漏れるが、 $\text{CO}_2$ ガスは供給され続けられるので培養空間35は5%濃度の $\text{CO}_2$ ガスに満たされる状態となり、 $\text{CO}_2$ 濃度が5%に保たれる。

$\text{CO}_2$ 濃度を所定の値に保つ方法としては上記の方法の他、 $\text{CO}_2$ 濃度を計測するセンサーを培養空間35に備えて、このセンサーの検知情報に基づいて、培養空間35が所定の $\text{CO}_2$ 濃度になるように高濃度の $\text{CO}_2$ を断続的に供給する方法もある。

また、培養空間35へ供給するガスは $\text{CO}_2$ に限らず、N（窒素）、O（酸素）等でもよい。

#### 【0045】

上記のように培養空間35が所定の温度、湿度及び $\text{CO}_2$ ガスに保たれた状態で、ディッシュ20に入れられた観察試料（菌や細胞）の培養が行われて適宜、蓋33やディッシュ20のフタ23を開けることなく培養液Bの交換が行われる。すなわち培養液吸出しホース31から培養液Bが吸い出され、この吸い出された量を超えない程度の量の新しい培養液Bが培養液供給ホース29からディッシュ20へ供給されて、ディッシュ20内の培養液Bの量は一定以下にならないように保たれる。このように顕微鏡観察用培養器1とディッシュ20とを使用することによって、培養液を交換して培養を行う環流培養を行うことができる。

## 【0046】

なお、培養液供給ホース29と培養液吸出しホース31はホース挿入孔27に対して抜き差し自在であり、培養液吸出しホース31の先端開口の高さ（ディッシュ20の底面からの距離）を調節できるので、培養液Bの量を調節できる。すなわち、培養液吸出しホース31の先端開口の高さを上げれば、培養液Bの液面が上がり液量を増やすことができ、培養液吸出しホース31の先端開口の高さを下げれば、培養液Bの液面が下がり液量を減らすことができる。

## 【0047】

上記のようにしてディッシュ20内の観察試料を培養しながら、顕微鏡観察を行う。すなわち、コンデンサーCから光が照射され、この光はトッププレート71の孔73、上側プレート75の孔75a、下側プレート77の孔77aを通り、対物レンズTに入射する。そして、ディッシュ20に入れられた試料を顕微鏡観察する。ディッシュ20内の観察試料を培養しながら、経時的な変化を連続して観察したり、ビデオ録画することができる。

## 【0048】

ヒーター59は水槽ユニット3に対し間隔を開けて配置されているので、水槽ユニット3の重量変化（貯水池5e内の水量変化等による）の影響を受けず、ディッシュ20と対物レンズTとの距離が変化するの防ぐことができ、観察画像がぼけるのを防止できる。

さらに、ヒーター59の上側プレート75の上方に空間を開けてトッププレート71が配置され、このトッププレート71上にディッシュ20が載せられているので、観察像がぼけるのを防止する効果をより高めることができる。すなわち、ガラス製のトッププレート71はアルミニウム製のヒーター59よりも熱膨張率が小さく、ディッシュ20を上側プレート75に直接に載せた場合に比べて、ヒーター59の加熱による温度変化に起因する上側プレート75等の膨張、変形の影響を殆ど受けず、対物レンズTと観察試料との距離が変化して観察像がぼけるのをより効果的に防止できる。

## 【0049】

また、前述したように上側プレート75、下側プレート77及び発熱体79の積

層体は、言わば吊り下げられた状態で内フランジ65に取り付けられているので、加熱された場合において上側プレート75等から成る積層体は下方側へ変形することになる。従って、上側プレート75等から成る積層体の変形がディッシュ20へ影響するのを極力抑えることができ、観察画像がぼけるのをより効果的に防止することができる。

更に、トッププレート71と上側プレート75との間に空間72が設けられているので、上側プレート75の変形がディッシュ20に伝わらず、対物レンズTと観察試料との距離が変化して観察像がぼけてしまうのを防止する効果をより一層高めることができる。

#### 【0050】

また、この顕微鏡観察用培養器1では、孔73、75a、77aが形成されているので、必要に応じて対物レンズTとディッシュ20の底面との間に油または水を介在させて顕微鏡観察を行う油浸または水浸を用いることも可能である。なお、本顕微鏡観察用培養器1は、水槽ユニット3を外して、スライドガラス等をトッププレート71に載せて、試料を加温して顕微鏡観察を行う使用法も可能である。

#### 【0051】

以上、本発明の実施の形態を説明したが、本発明の具体的構成がこの実施の形態に限定されるものではなく、本発明の要旨から外れない範囲での設計変更等があっても本発明に含まれる。

実施の形態においては、ディッシュ20としてフタ23付きのものを使用した方が、ディッシュ20に観察試料を入れてフタ23なしで容器収容部5gに装着するようにしてもよい。この場合、観察試料に薬品等を注入するには、フタ49を外して、透明ガラスヒーター43の作業口45から器具を差し入れて作業を行う。フタ49を外すだけなので、培養空間35の温度等を殆ど変化させることなく、作業を行うことができる。

#### 【0052】

また、上記実施の形態では、培養液吸出しホース31から培養液を吸出し、この吸い出した量の培養液を培養液供給ホース29から供給する環流培養を行う例

を示したが、本発明はこれに限定されず、培養液供給ホース29及び培養液吸出しホース31を備えない普通のディッシュを用いて、培養液を交換しない静置培養を行うことができるのは勿論である。

さらに、給水管13や給水タンク16等の給水手段を設けない構成として、最初に貯水池5eに水を入れただけで、その後の給水を行わないで使用することも可能である。このように給水を行わなくても、48時間程度の培養であれば使用することが可能である。

また、蓋板37の窓39は円形ではなく、矩形に形成してもよい。

#### 【0053】

上記実施の形態では、ヒーター59を中心に孔を有し、アルミニウム製の上側プレート75等によって構成したが、本発明はこれに限られず、ガラス板の表面に透明導電膜を蒸着等の手段で形成し、この透明導電膜に通電することにより発熱するタイプのヒーターを用いることも可能である。

また、透明ガラスヒーター43に作業口45を設けない構成とすることも可能である。

#### 【0054】

上記実施の形態では、ディッシュ20をトッププレート71上に載置したが、トッププレート71を外して、加熱プレート75上にディッシュ20を直接に載置することも可能である。

なお、観察中において対物レンズTを介してヒーター59の熱が奪われることによって、加熱プレート75や保護プレート77がミクロン単位で変形し、観察画像がぼけるのを防止するため、対物レンズTの鏡筒に巻き付けて加温するレンズヒーターを用いてもよい。

#### 【0055】

##### 【発明の効果】

以上のように、本発明によれば、顕微鏡のステージに載せた状態のまま観察試料の培養と観察を行うことができるようになる。

また、設定された培養条件による雰囲気を崩さないで観察試料に対する処置を容易に行うことができるようになる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の実施の形態に係る顕微鏡観察用培養器を顕微鏡のステージに載せた状態で示す斜視図である。

【図 2】

図 1 に示す顕微鏡観察用培養器の平面図である。

【図 3】

図 1 の A-A 線に沿って切断した拡大断面図である。

【図 4】

図 1 に示す顕微鏡観察用培養器の分解斜視図である。

【図 5】

図 2 の B-B 線に沿って切断した一部省略拡大断面図である。

【図 6】

図 2 の C-C 線に沿って切断した要部拡大断面図である。

【図 7】

図 2 の D-D 線に沿って切断した要部拡大断面図である。

【図 8】

固定子取り付け用治具を用いて固定子を取り付ける作業を説明するための斜視図である。

【図 9】

固定子取り付け用治具を用いて固定子を取り付ける作業を説明するための斜視図である。

【図 10】

図 1 に示す顕微鏡観察用培養器に使用するディッシュの一例を示す斜視図である。

【図 11】

図 10 に示すディッシュを容器本体と蓋とに分離して示す斜視図である。

【図 12】

図 10 の D-D 線に沿って切断した要部拡大断面図である。

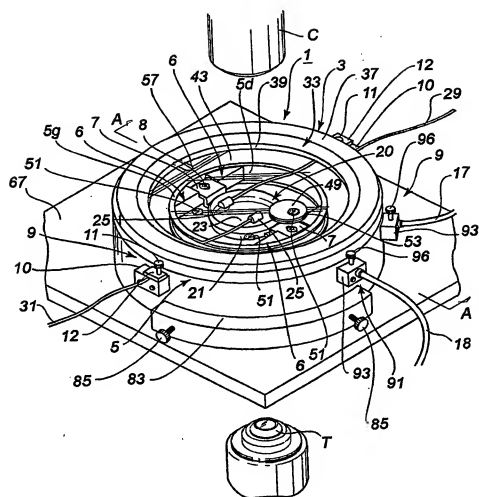
【符号の説明】

1	顕微鏡観察用培養器	3	水槽ユニット
5	水槽	5 e	貯水池
5 g	容器収容部	7	容器ホルダー
20	ディッシュ	21	本体
23	フタ	25	ホース接続突部
27	ホース挿入孔	29	培養液供給ホース
31	培養液吸出しホース	33	蓋
39	窓	59	ヒーター
67	ステージ	69	ツール嵌め込み孔
75 a	上側プレート of 孔	77 a	下側プレート of 孔
79	発熱体	103	芯出し部材
105	外嵌め部材		

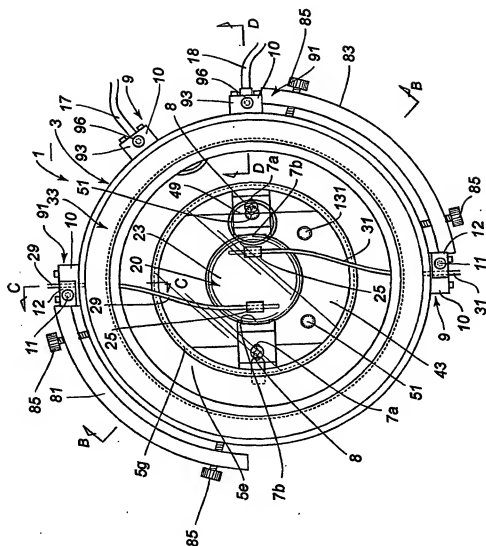
【書類名】

図面

【図1】

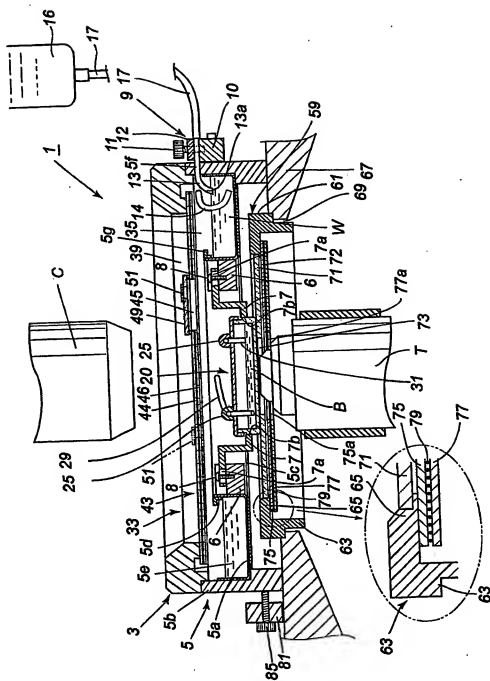


【图2】

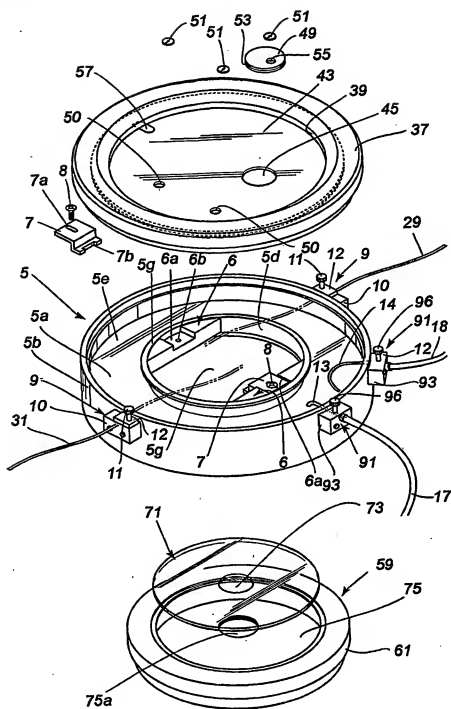




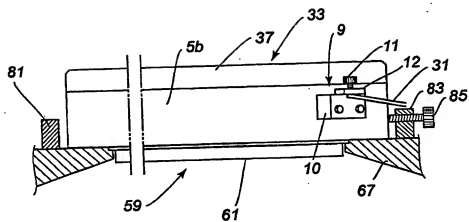
【圖 3】



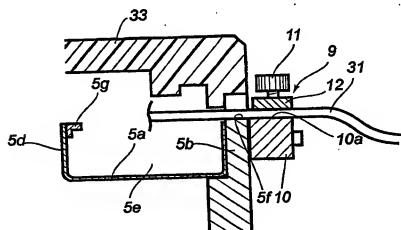
【図4】



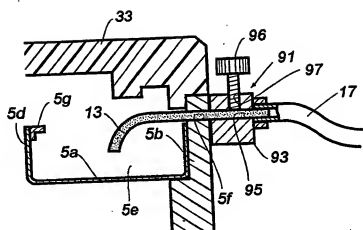
【図5】



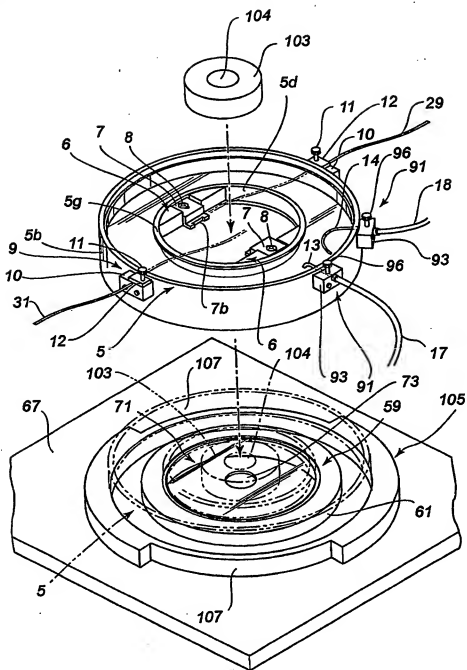
【図6】



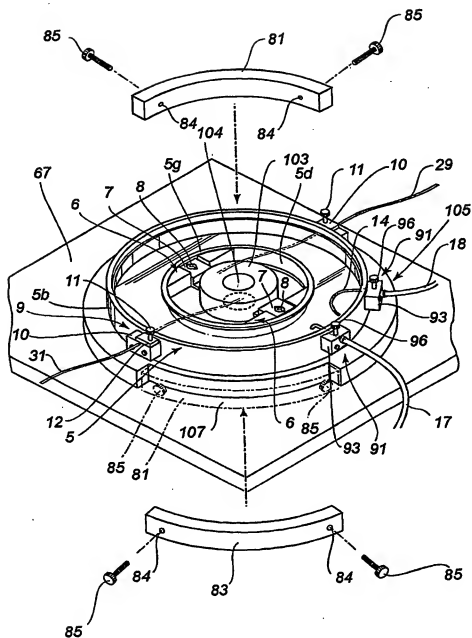
【図 7】



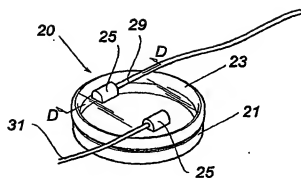
【図8】



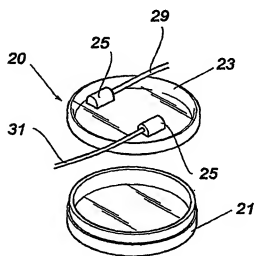
【图9】



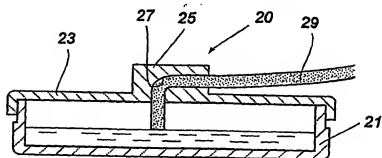
【図 10】



【図 11】



【図 12】



【書類名】

要約書

【要約】

【課題】従来では菌や細胞の培養器をインキュベータに入れて培養しており、培養途中でディッシュの中に器具を差し入れるには、容器をほぼ完全に開放しなければならない。この開放によって、湿度や温度、ガス濃度等の培養条件が完全に崩れてしまう。

【解決手段】ディッシュ20内の観察試料を培養しながら、顕微鏡観察を行う。すなわち、コンデンサーCから光が照射され、この光はトッププレート71の孔73、上側プレート75の孔75a、下側プレート77の孔77aを通り、対物レンズTに入射する。そして、ディッシュ20に入れられた試料を顕微鏡観察する。さらにディッシュ20内の観察試料を培養しながら、経時的な変化を連続して観察したり、ビデオ録画することができる。

【選択図】

図1



出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[595040205]

1. 変更年月日

1995年 2月10日

[変更理由]

新規登録

住 所

静岡県富士宮市源道寺町339番地

氏 名

株式会社東海ヒット

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

### **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**